Product sheet

Клетки TM3 | 305167

Обща информация

Description	Клетките TM3 са уникална клетъчна линия, получена от 11-13-дневни мъжки клетки на Лейдиг на мишки, която има адхезивни свойства на растеж. Тези клетки не са туморогенни, тъй като не предизвикват тумори при имуносупресирани мишки, въпреки че могат да образуват колонии в полутвърда среда. Те експресират гена за простагландин F2a и се характеризират с няколко маркера за експресия, включително лутеинизиращ хормон (LH), епидермален растежен фактор (EGF) и положителни маркери за андрогенни, естрогенни и прогестеронови рецептори. Забележителна характеристика на клетките TM3 е техният отговор на LH, който води до увеличаване на производството на cAMP; те обаче не реагират на фоликулостимулиращия хормон (FSH). Поддържането на реактивността на LH зависи от количеството серум. Освен това в присъствието на LH тези клетки могат да метаболизират холестерол. Те са тествани и е установено, че са отрицателни за вируса на ектромелия (миша едра шарка), което гарантира висок стандарт на безопасност за лабораторна употреба
Organism	Мишка
Tissue	Тестис
Disease	Нормални лейдигови клетки на тестисите (нетуморогенни; мишка от линията BALB/c)
Metastatic site	Неприложимо (нормална, нетуморогенна клетъчна линия от тестисите)
Applications	Биология на лейдиговите клетки; стероидогенеза в тестисите; LH/cAMP сигнализация; изследвания на рецепторите за андрогени, естрогени и прогестерон; реакция към гонадотропини; метаболизъм на холестерола; изследвания на развитието и функцията на тестисите
Synonyms	TM-3

Характеристики

Breed/Subspecies	BALB/c
Age	11 до 13 дни
Gender	Мъжки
Morphology	Епителиален
Cell type	Клетки на Лайдиг
Growth properties	Придържащи се

Клетки TM3 | 305167

Регулаторни данни

Citation	TM3 (каталожен номер 305167 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_4326
GMO Status	Без генетична модификация; клетъчна линия от лейдигови клетки на мишки от див тип, получена чрез първична култура от тестисите на новородени мишки от линията BALB/c

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO3 (номер на изделието на Cytion 820400a)
Supplements	Допълнете средата с 2,5% FBS, 5% конски серум
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	приблизително 36 до 48 часа
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Split ratio	от 1 до 3
Seeding density	от 1 до 3 × 10^4 клетки/$см^2$
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично

Клетки TM3 | 305167

Post-Thaw Recovery	След размразяване разпределете клетките при плътност 5 × 10^4 клетки/$см^2$ и изчакайте поне 24–48 часа за прилепване, преди да извършите първата смяна на средата. Поддържайте чувствителността към LH, която зависи от партидата на серума, като проверявате всяка партида FBS за реакцията на cAMP към LH.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Клетки TM3 | 305167

Flask Coating	Няма
Freezing Procedure	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.